

Genetyka ogólna

wykład dla studentów II roku biotechnologii

Andrzej Wierzbicki

Uniwersytet Warszawski

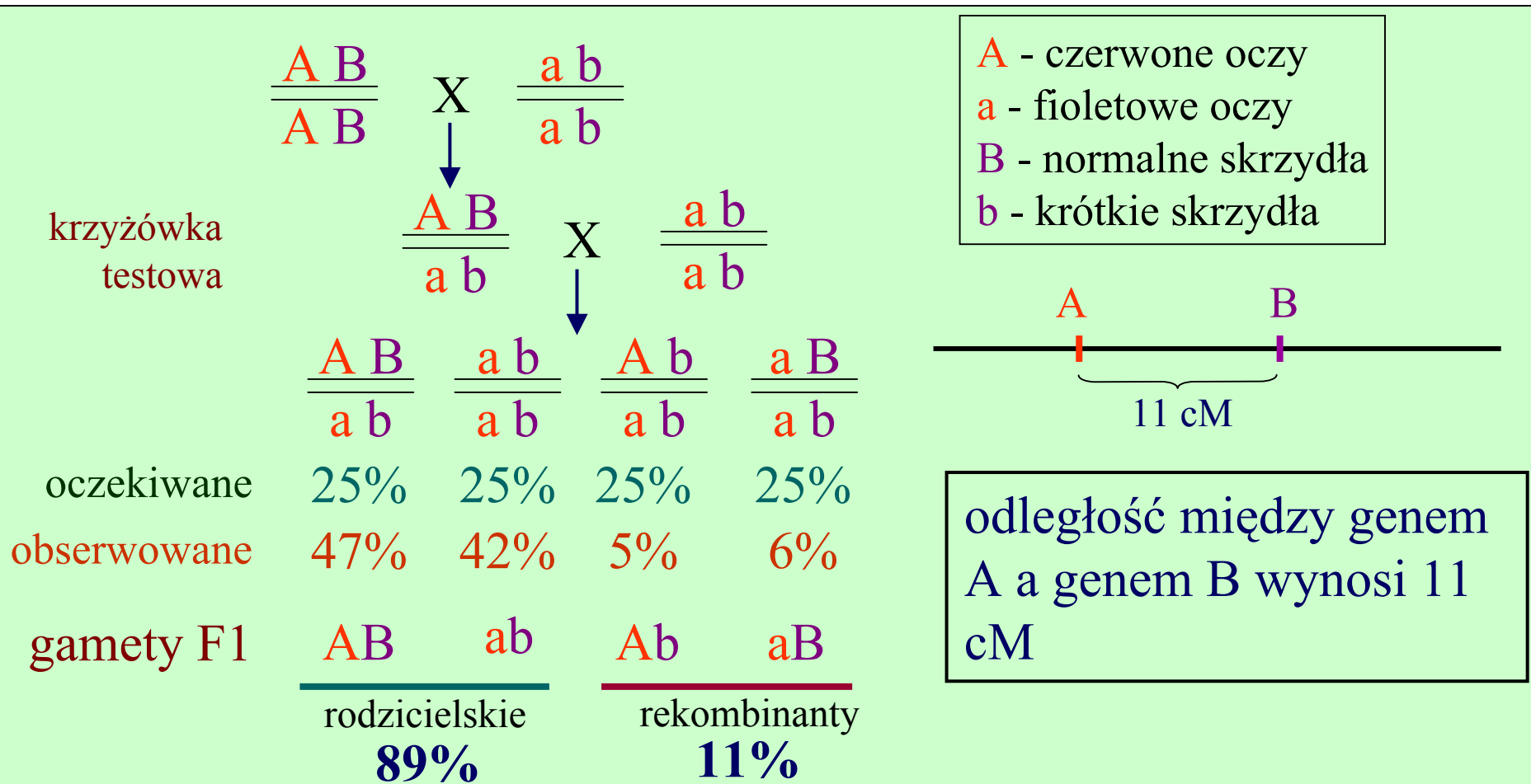
Wydział Biologii

andw@ibb.waw.pl

<http://arete.ibb.waw.pl/private/genetyka/>

Chromosomy - przypomnienie

1. Geny są na chromosomach.
2. Geny leżące na jednym chromosomie są sprzężone.
3. Rekombinanty powstają w wyniku crossing over
4. Częstość rekombinacji jest wyznacznikiem odległości między genami



Analiza statystyczna wyników krzyżówek

- hipoteza zerowa: wynik nie odbiega od założonego rozkładu
- wyliczenie współczynnika χ^2 (chi-kwadrat)
- odczytanie prawdopodobieństwa z tabel

$$\chi^2 = \sum \frac{(\text{wart.obserwowane} - \text{wart.oczekiwane})^2}{\text{wart.oczekiwane}}$$

d.f \ P	0,05	0,001
1	3,8	10,3
2	6,0	13,8
3	7,8	16,2

tabela prawdopodobieństwa

	w.obs.	rozkład	w.ocz.	
żółty groszek	6022	3	6017	0,0042
zielony groszek	2001	1	2006	0,013
			suma:	0,017 -> $P \geq 0,05$ wynik nie odbiega

	w.obs.	rozkład	w.ocz.	
żółty groszek	4552	3	6017	356
zielony groszek	3471	1	2006	1069
			suma:	1425 -> $P \leq 0,001$ wynik odbiega

Jak interpretować wyniki krzyżówek

Skrzyżowano czyste linie kukurydzy o żółtych liściach i kukurydzy o krótkich korzeniach. W F1 wszystkie rośliny były normalne. W F2 otrzymano 609 normalnych, 194 o żółtych liściach, 197 o krótkich korzeniach. Jakie zachodzą relacje między genotypem a fenotypem?

AAbb

X

aaBB

A - zielone liście
a - żółte liście
B - długie korzenie
b - krótkie korzenie

zielone, długie	9
żółte, długie	3
zielone, krótkie	3
żółte, krótkie	0

		F1 AaBb			
		AB	Ab	aB	ab
F2	AB	AABB	AABb	AaBB	AaBb
	Ab	AABb	AAbb	AaBb	Aabb
	aB	AaBB	AaBb	aaBB	aaBb
	ab	AaBb	Aabb	aaBb	aabb

	w. obs.	rozkład	w. ocz.	
zielone, długie	609	9	600	0,14
żółte, długie	194	3	200	0,18
zielone, krótkie	197	3	200	0,05
suma:			0,37	-> $P \geq 0,05$ wynik nie odbiega

Jak interpretować wyniki krzyżówek

Wykonano krzyżówkę testową mutantu cP/Cp z mutantem cc/pp .

Uzyskano następujące potomstwo. Czy C i P są sprzężone? Jaka jest odległość między C a P?

białe futro, ciemne oczy	240
białe futro, czerwone oczy	31
ciemne futro, ciemne oczy	34
ciemne futro, czerwone oczy	274

C - ciemne futro
c - białe futro
P - ciemne oczy
p - czerwone oczy

	<i>genotyp</i>	<i>obs.</i>	<i>rozkł.</i>	<i>oczek.</i>
cP/Cp x cp/cp	cP/cp	240	1	145
	Cp/cp	274	1	145
	CP/cp	34	1	145
	cp/cp	31	1	145
	<i>suma:</i>	579		$chi^2 = 352$

$p \leq 0,001$
są sprzężone

Jak interpretować wyniki krzyżówek

Wykonano krzyżówkę testową mutantu cP/Cp z mutantem cc/pp .

Uzyskano następujące potomstwo. Czy C i P są sprzężone? Jaka jest odległość między C a P?

białe futro, ciemne oczy	240
białe futro, czerwone oczy	31
ciemne futro, ciemne oczy	34
ciemne futro, czerwone oczy	274

C - ciemne futro
c - białe futro
P - ciemne oczy
p - czerwone oczy

	<i>genotyp</i>	<i>obs.</i>	
cP/Cp	cP/cp	240	42%
	Cp/cp	274	47%
X	CP/cp	34	6%
	cp/cp	31	5%
cP/cp			

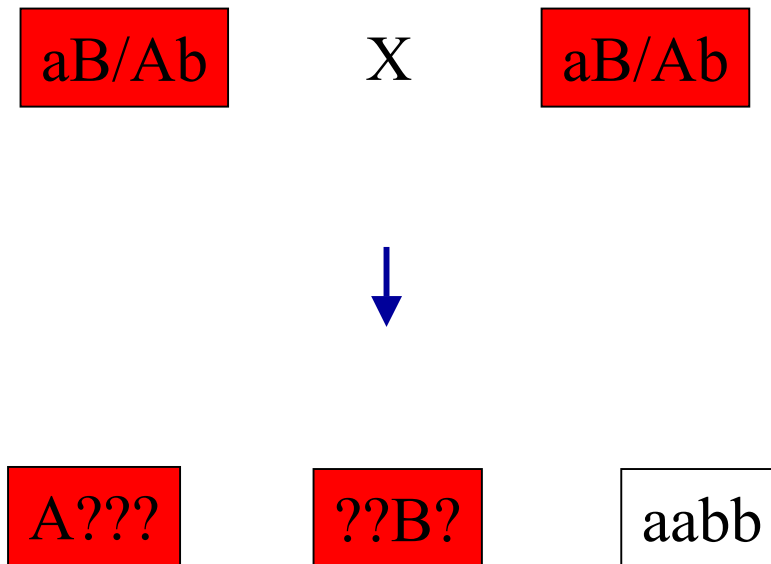
rodzicielskie

rekombinanty

Odległość między C a P wynosi 11 cM

Jak przewidywać wyniki krzyżówek

Czerwona barwa kwiatów *Antirrhinum* jest determinowana przez dwa geny **A** i **B** spełniające tę samą funkcję, leżące na jednym chromosomie i oddalone od siebie o 5 cM. Skrzyżowano roślinę **aB/Ab** z rośliną **aB/Ab**. Ile trzeba wysiać nasion aby otrzymać około 10 roślin o białych kwiatach?



Jak przewidywać wyniki krzyżówek

Czerwona barwa kwiatów *Antirrhinum* jest determinowana przez dwa geny **A** i **B** spełniające tę samą funkcję, leżące na jednym chromosomie i oddalone od siebie o 5 cM. Skrzyżowano roślinę **aB/Ab** z rośliną **aB/Ab**. Ile trzeba wysiać nasion aby otrzymać około 10 roślin o białych kwiatach?

rekombinanty: 5%
rodzicielskie: 95%

		aB/Ab		X	aB/Ab	
		rekombi -nanty AB	rodzicielskie		rekombi -nanty ab	
		AB	Ab	aB	ab	
rekombinanty	AB	AABB	AABb	AaBB	AaBb	2,5%
rodzicielskie	Ab	AABb	AAbb	AaBb	Aabb	47,5%
	aB	AaBB	AaBb	aaBB	aaBb	47,5%
rekombinanty	ab	AaBb	Aabb	aaBb	aabb	2,5%
		2,5%	47,5%	47,5%	2,5%	

$$0,025 * 0,025 = 0,000625 = 1/1600$$

$$10 * 1600 = 16000$$

Co jest nośnikiem genów?

- geny mają naturę dyskretną
 - dziedziczenie zachodzi zgodnie z prawami Mendla
 - geny są na chromosomach
1. czym są mutacje?
 2. jaka substancja chemiczna jest nośnikiem genów?
 3. co robią geny?
 4. w jaki sposób geny są zapisane w cząsteczce chemicznej?
- Geny są zakodowane w ... i co z tego wynika

Mutacje to fizyczne zmiany w genach

Promieniowanie jonizujące indukuje mutacje

- normalnie częstość mutacji jest znikomo niska
- przez naświetlenie promieniami X H.J. Muller uzyskał w tydzień tyle mutantów *Drosophila*, ile wcześniej zidentyfikowano przez 15 lat
- geny są zapisane w cząsteczkach chemicznych



HJ Muller (1890-1967)

W jakiej substancji chemicznej są geny?

Substancje mogące potencjalnie być nośnikami genów

polisacharydy

białka

kwas deoksyrybonukleinowy

Substancje o zbyt małej złożoności

substancje nieorganiczne

cukry proste

aminokwasy

etc.

W jakiej substancji chemicznej są geny?

Transformacja *Pneumococcus*

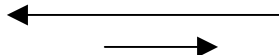
- szczepy o różnych antygenach powierzchniowych I, II, III etc.
- szczepy patogenne (**S**) i niepatogenne (**R**)



R

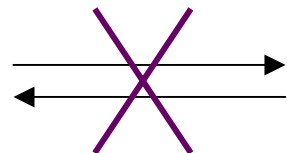
S

R



S

II



III

IIIS

mysz zdechła (**IIIS**)

IIR

mysz żyje

IIIS 65°C

mysz żyje

IIR 65°C

mysz żyje

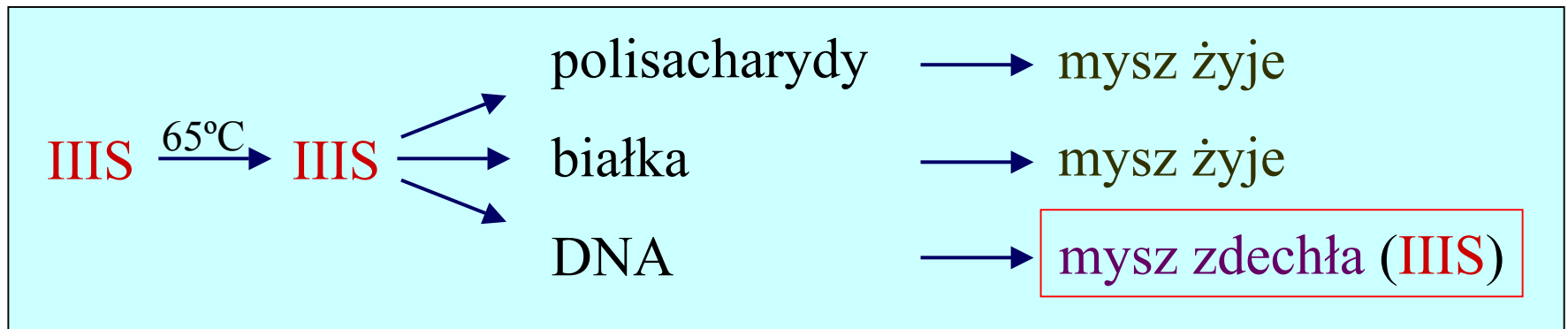
IIR + IIIS 65°C mysz zdechła (**IIIS**)

Szczep **IIR** jest transformowany przez geny ze szczepu **IIIS**.

Nośnikiem genów jest DNA

DNA - czynnik transformujący *Pneumococcus*

- zabicie (65°C) szczepu **IIS**
- chemiczne oczyszczenie polisacharydów, białek i DNA
- zmieszanie ze szczepem **IIR** i wstrzyknięcie myszom

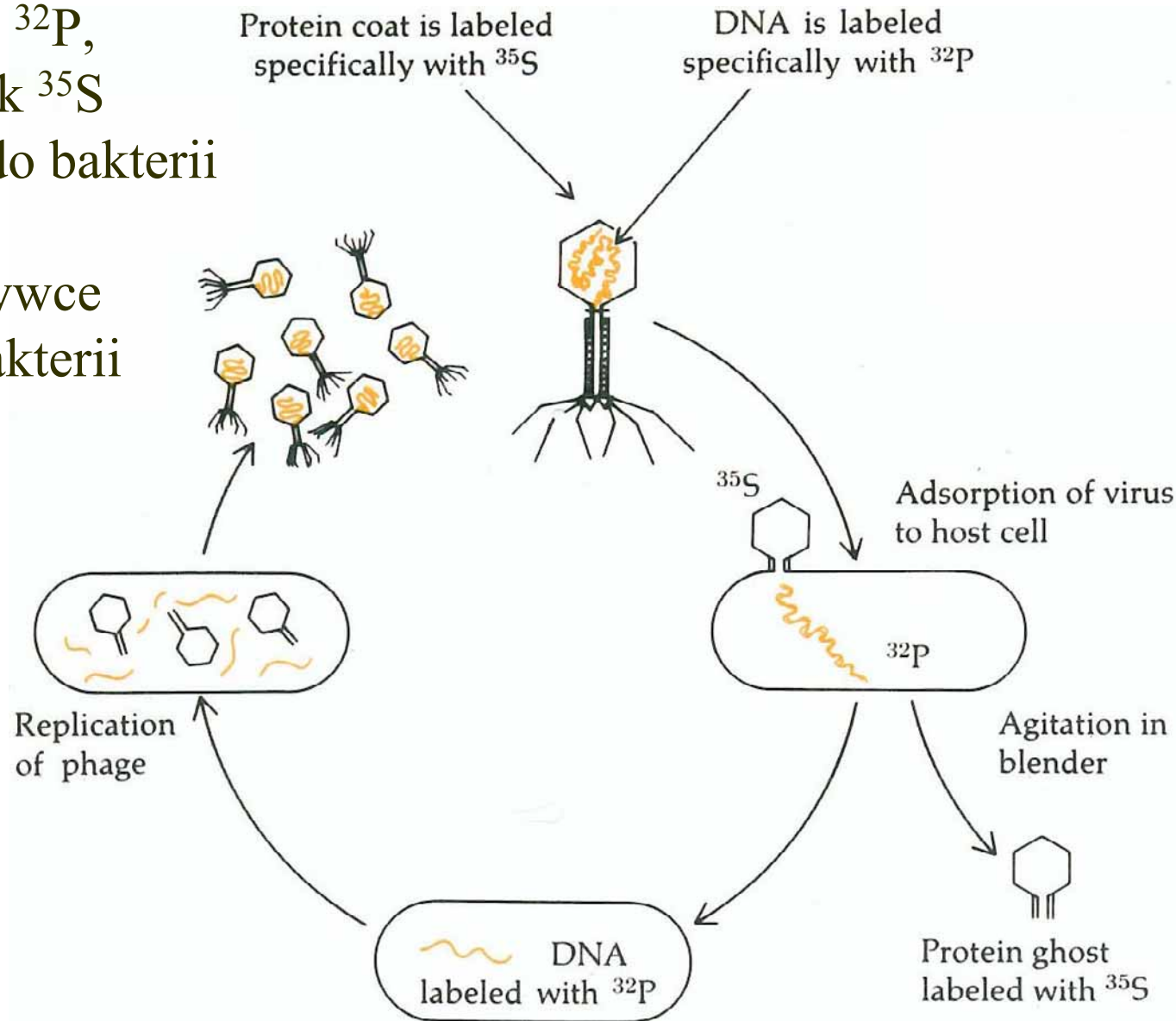


DNA jest czynnikiem transformującym **IIR** do **IIS**.

Nośnikiem genów jest DNA

DNA - materiał genetyczny faga T2

- znakowanie DNA ^{32}P ,
znakowanie białek ^{35}S
- adsorpcja fagów do bakterii
- homogenizacja
- ^{35}S zostaje w pożywce
 ^{32}P wchodzi do bakterii
- replikacja faga

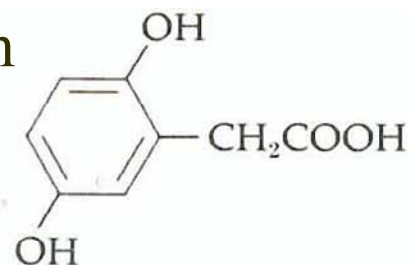
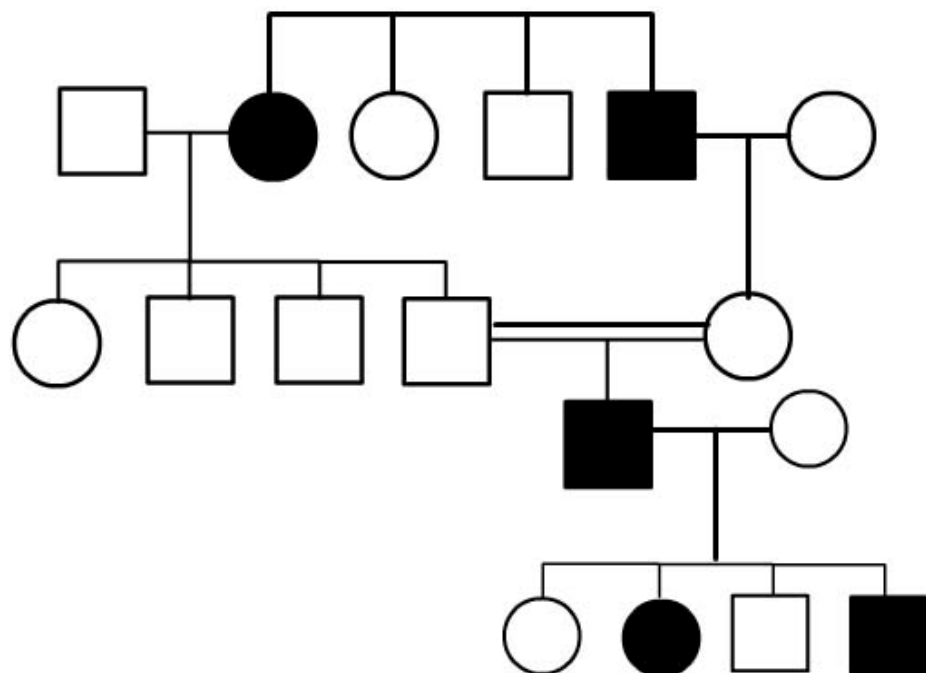
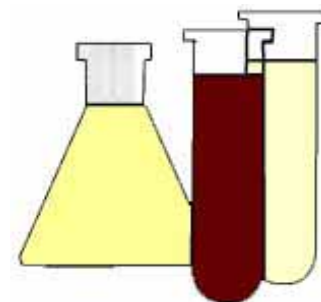


Tylko DNA jest
niezbędny do
produkcji fagów
potomnych

Geny kodują białka

Alkaptonuria

- choroba dziedziczna człowieka
- nadmiar pewnej substancji w moczu
- hipoteza: mutacja w genie kodującym enzym metabolizujący tę substancję



Homogentisic acid



ALKAPTONURIA



4-Maleylacetoacetic acid

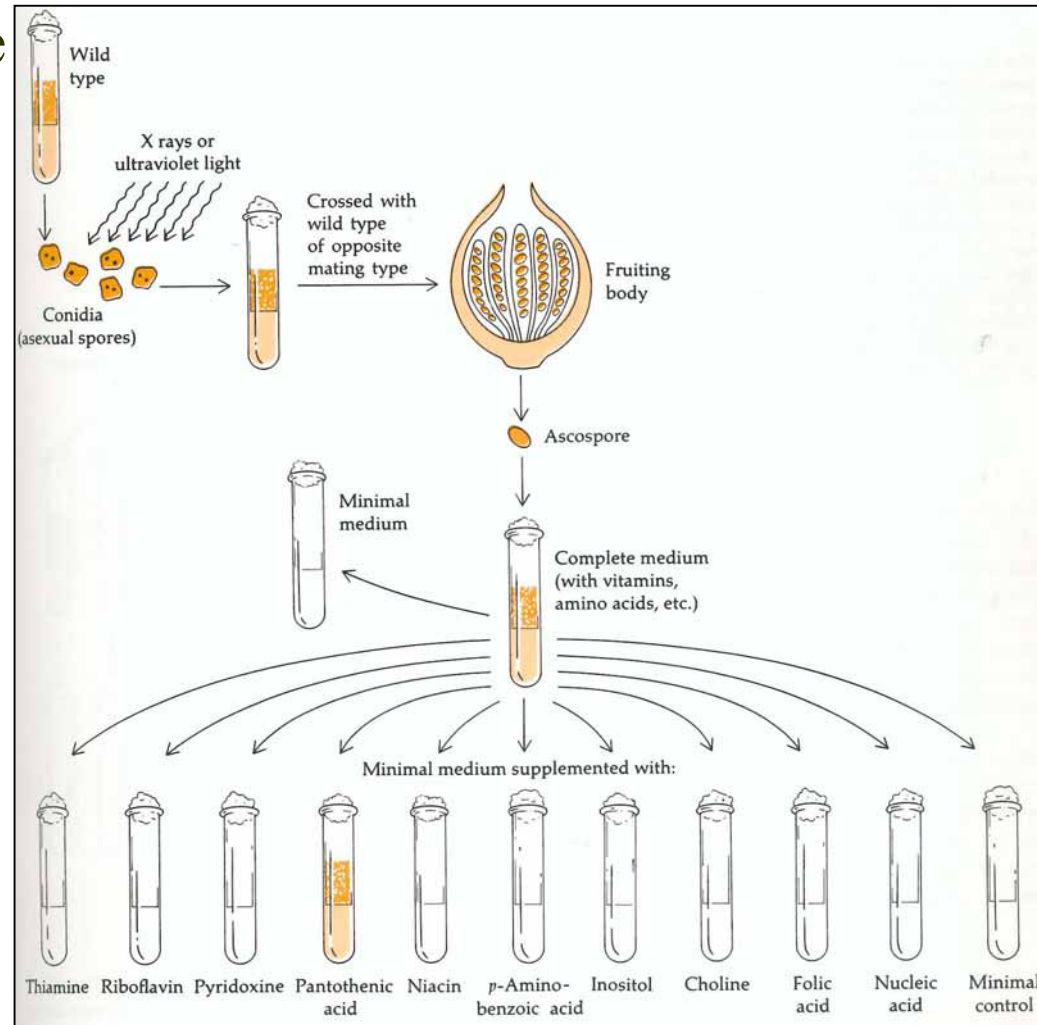
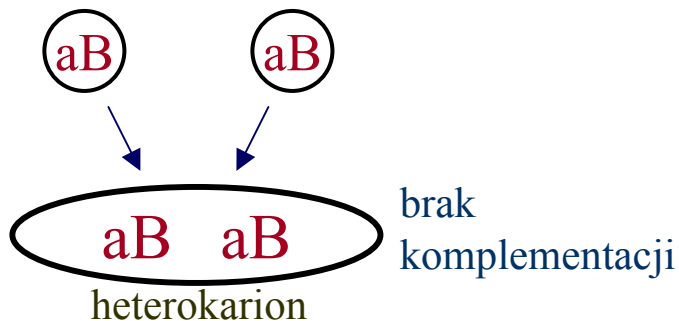
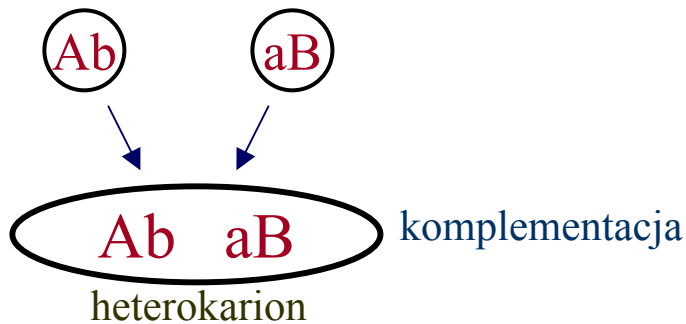


Energy metabolism

Geny kodują białka

Neurospora

- mutageneza i selekcjonowanie mutantów pokarmowych
- testy komplementacji



Geny kodują białka

Jeden gen - jeden enzym

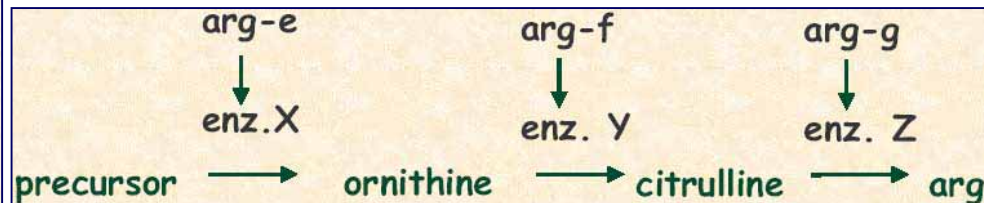
- auksotrofy niezdolne do wzrostu bez argininy
- trzy grupy komplementacji - trzy różne geny
- niezbędne na różnych etapach biosyntezy argininy

grupy
komplementacji

1. a, b arg-e synteza ornityny
2. c, d, f arg-f synteza cytruliny
3. e arg-g synteza argininy

Mutant	citrulline	ornithine	arginine
arg-e	+	+	+
arg-f	+	-	+
arg-g	-	-	+

wzrost w pożywce z dodatkiem

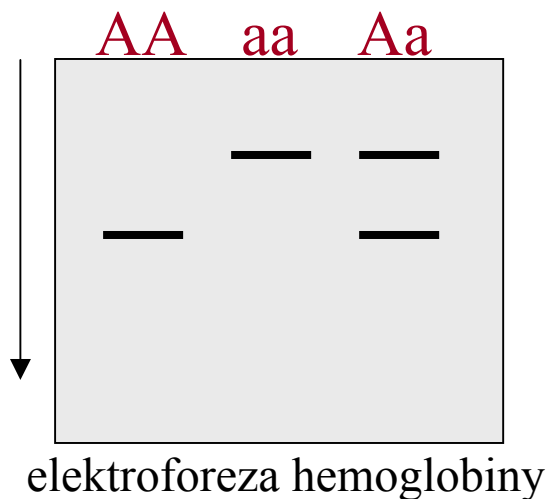


wzrost w pożywce minimalnej

Geny kodują białka

Anemia sierpowata: jeden gen - jedno białko

- choroba genetyczna: anemia, odporność na malarię
- choroba - zmiana struktury jednego białka, hemoglobiny
- mutacje - zmiany w sekwencji białka



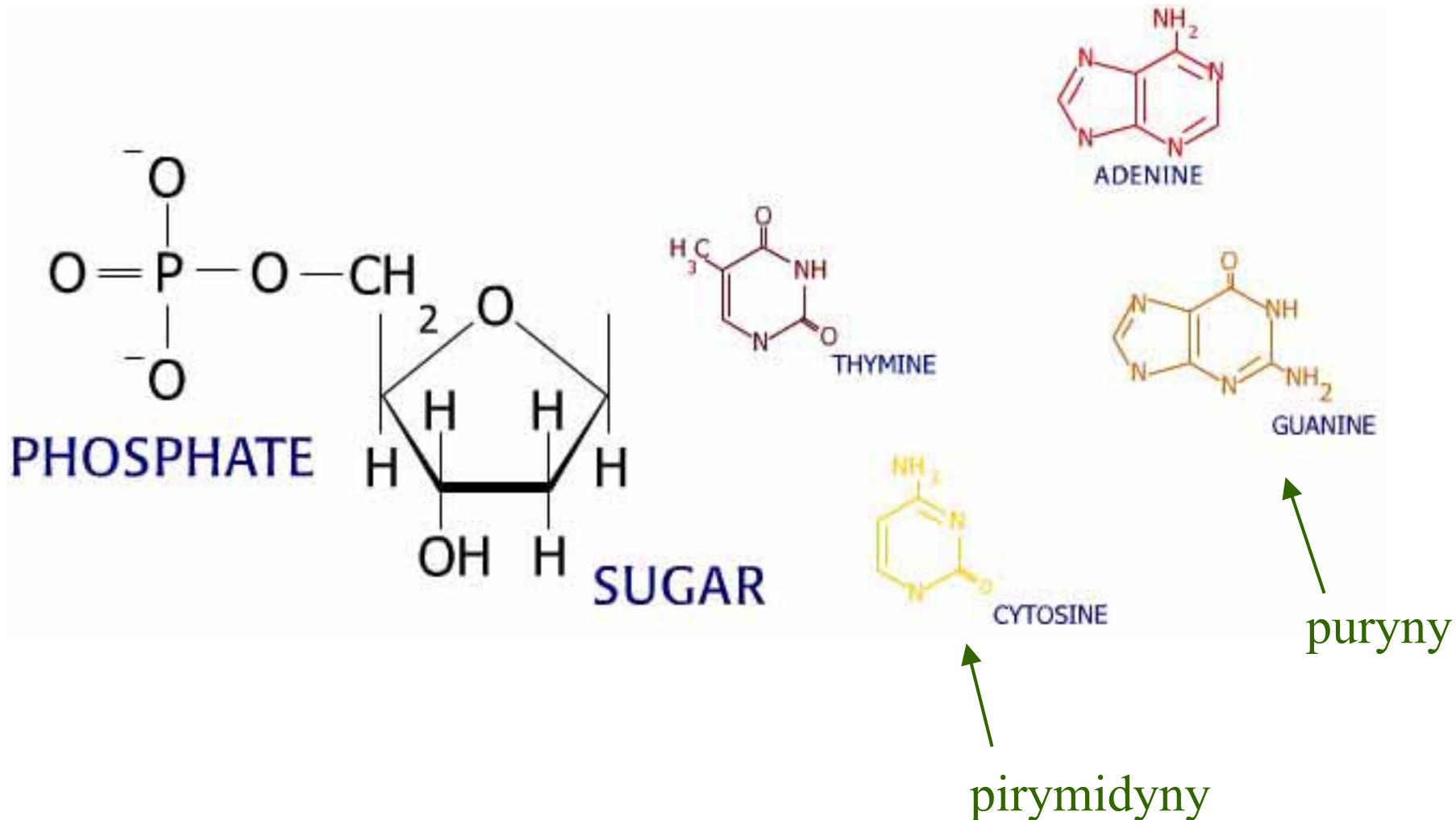
	Amino acid position									
	1	2	3 ... 6	7 ... 26	63 ... 67	125 ... 146				
Normal (HbA)	Val	His	Leu	Glu	Glu	Glu	His	Val	Glu	His
HbS	Val	His	Leu	Val	Glu	Glu	His	Val	Glu	His
HbC	Val	His	Leu	Lys	Glu	Glu	His	Val	Glu	His
HbG San Jose	Val	His	Leu	Glu	Gly	Glu	His	Val	Glu	His
HbE	Val	His	Leu	Glu	Glu	Lys	His	Val	Glu	His
HbM Saskatoon	Val	His	Leu	Glu	Glu	Glu	Tyr	Val	Glu	His
Hb Zurich	Val	His	Leu	Glu	Glu	Glu	Arg	Val	Glu	His
HbM Milwaukee 1	Val	His	Leu	Glu	Glu	Glu	His	Glu	Glu	His
HbD β Punjab	Val	His	Leu	Glu	Glu	Glu	His	Val	Gln	His

mutacje w genie hemoglobiny

Struktura DNA

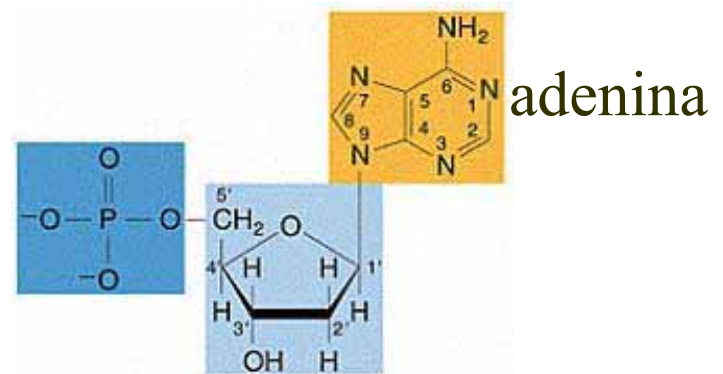
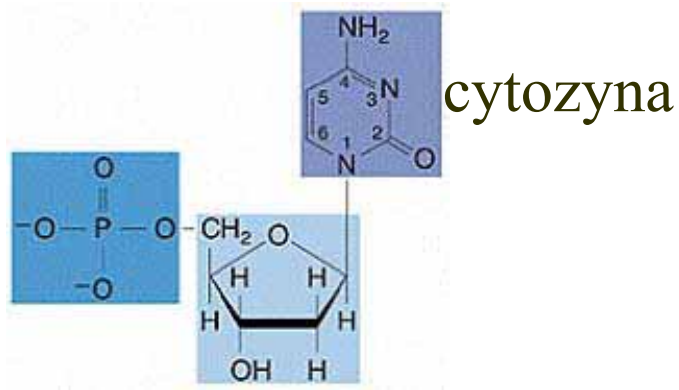
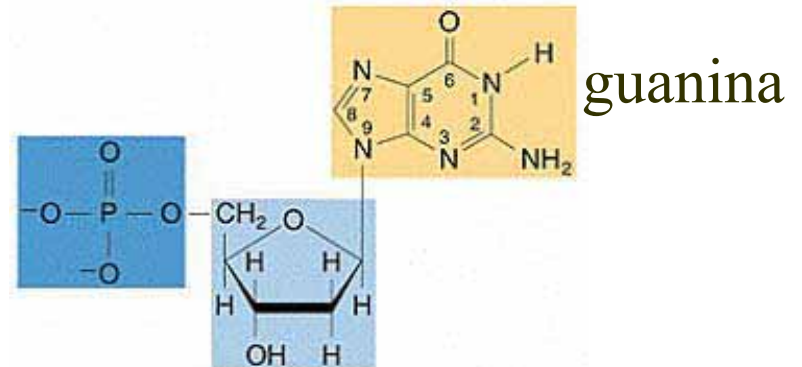
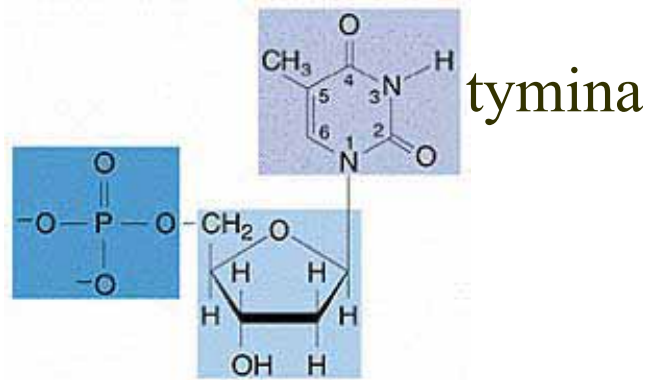
Cechy struktury DNA

- składa się z grup fosforanowych, pentozy i zasad azotowych



Cechy struktury DNA

- składa się z grup fosforanowych, pentozy i zasad azotowych
- grupa fosforanowa łączy się z deoksyrybozą i zasadą azotową



pirymidyny

puryny

Cechy struktury DNA

- składa się z grup fosforanowych, pentozy i zasad azotowych
- grupa fosforanowa łączy się z deoksyrybozą i zasadą azotową
- grupy fosforanowe i deoksyrybozy tworzą szkielet cząsteczki

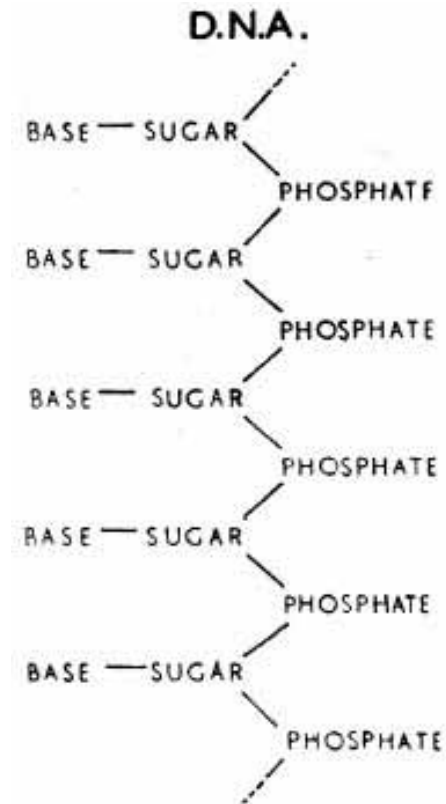
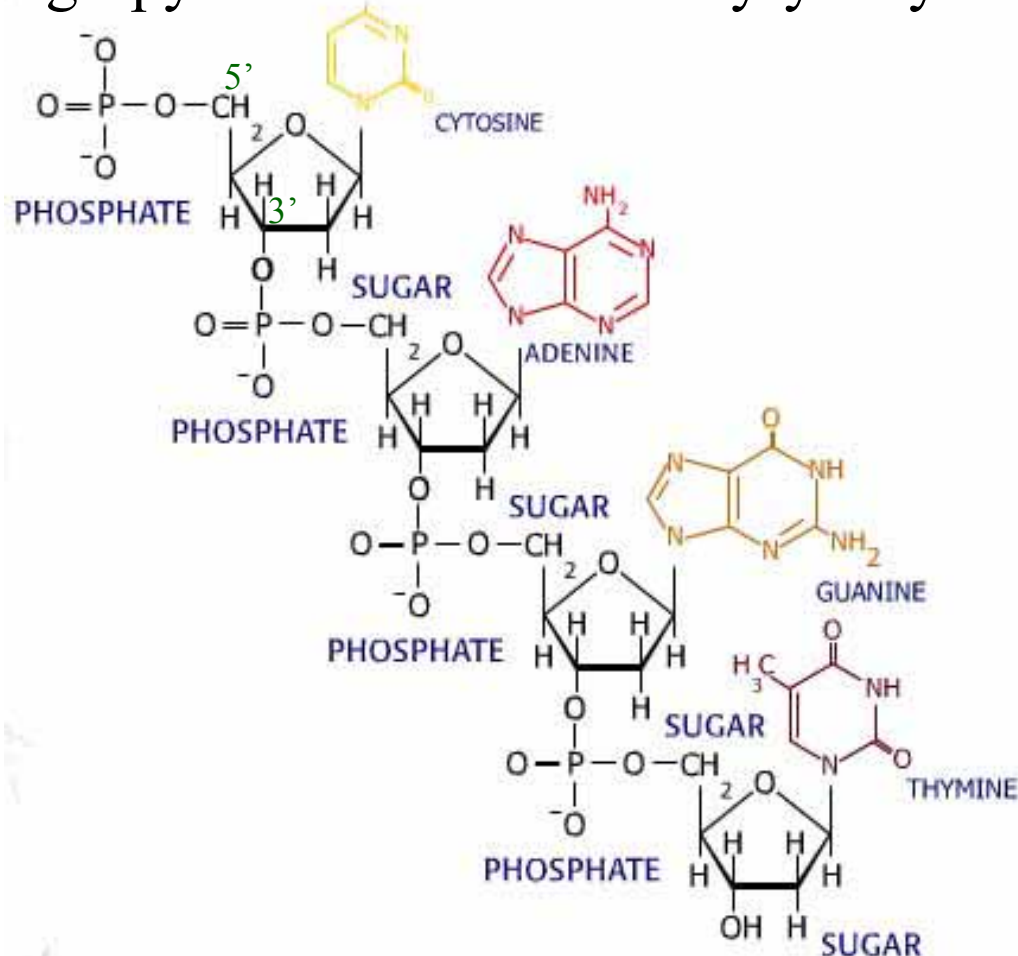


Fig. 1. Chemical formula of a single chain of deoxyribonucleic acid

Jak łańcuchy DNA układają się w przestrzeni?

- proporcje A:T i G:C są stałe, a proporcja (A+T):(G+C) jest zmienna

Table 11-1 Molar Properties of Bases* in DNAs from Various Sources

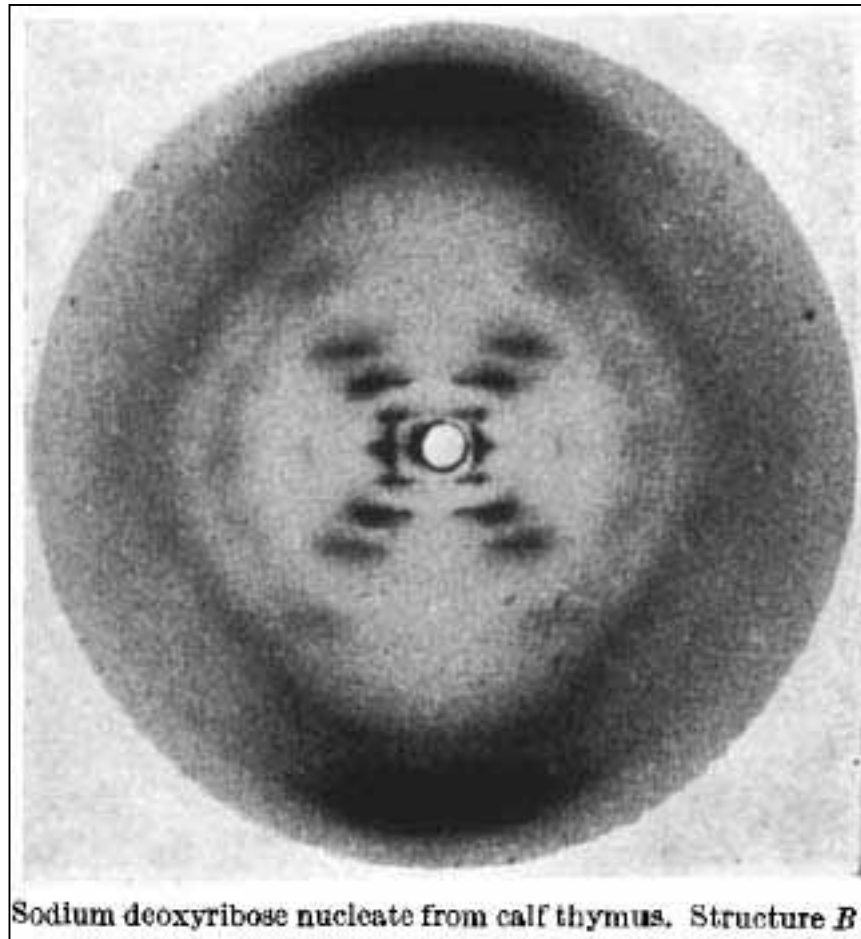
Organism	Tissue	Adenine	Thymine	Guanine	Cytosine	$\frac{A + T}{G + C}$
<i>Escherichia coli</i> (K12)	—	26.0	23.9	24.9	25.2	1.00
<i>Diplococcus pneumoniae</i>	—	29.8	31.6	20.5	18.0	1.59
<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	—	15.1	14.6	34.9	35.4	0.42
Yeast	—	31.3	32.9	18.7	17.1	1.79
<i>Paracentrotus lividus</i> (sea urchin)	Sperm	32.8	32.1	17.7	18.4	1.85
Herring	Sperm	27.8	27.5	22.2	22.6	1.23
Rat	Bone marrow	28.6	28.4	21.4	21.5	1.33
Human	Thymus	30.9	29.4	19.9	19.8	1.52
Human	Liver	30.3	30.3	19.5	19.9	1.53
Human	Sperm	30.7	31.2	19.3	18.8	1.62

*Defined as moles of nitrogenous constituents per 100 g-atoms phosphate in hydrolysate.

SOURCE: E. Chargaff and J. Davidson, eds., *The Nucleic Acids*. Academic Press, 1955.

Jak łańcuchy DNA układają się w przestrzeni?

- proporcje A:T i G:C są stałe, a proporcja (A+T):(G+C) jest zmienna
- cząsteczka ma układ helikalny i składa się z więcej niż jednego łańcucha polinukleotydowego



Sodium deoxyribose nucleate from calf thymus. Structure *B*

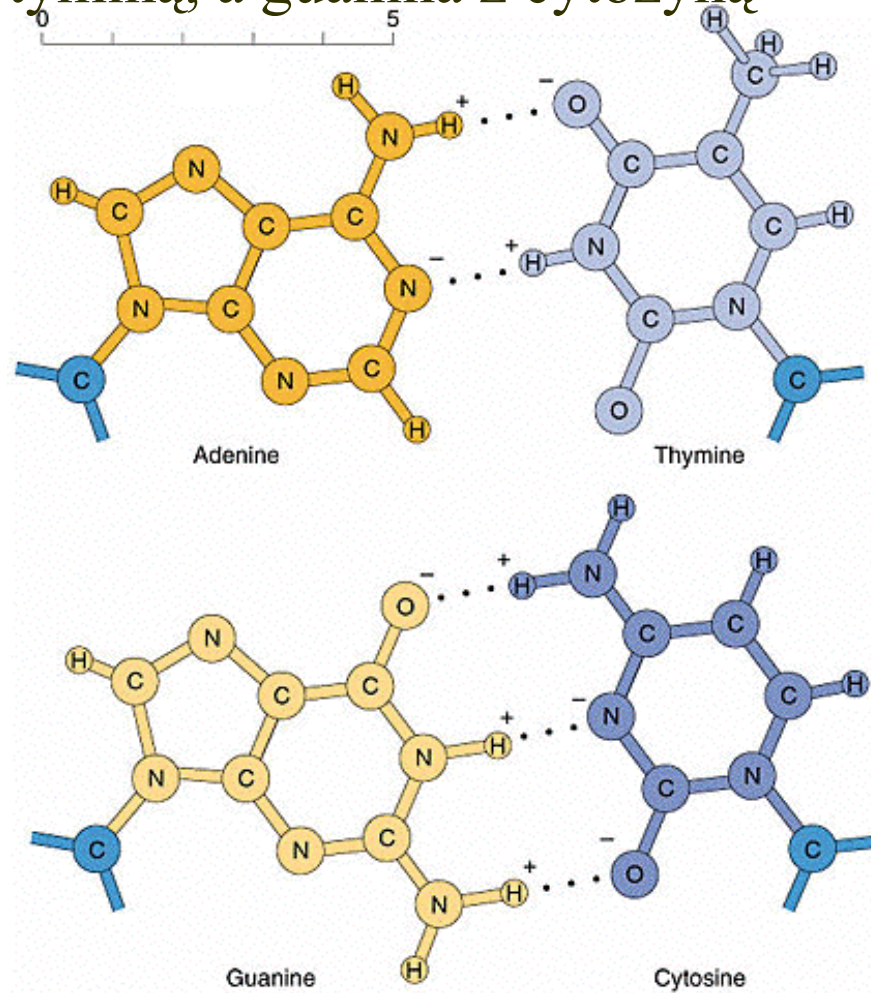
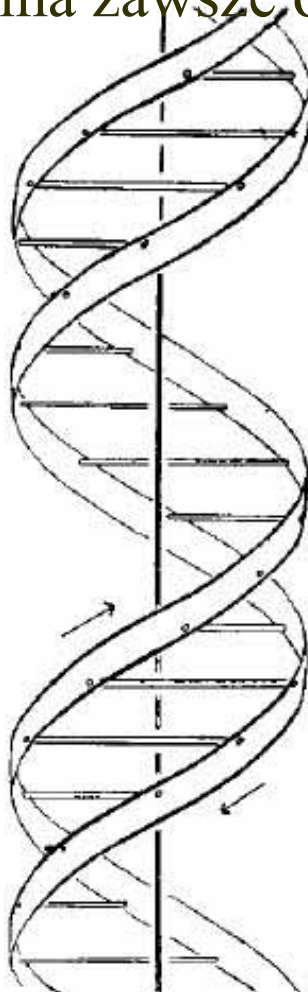
Jak łańcuchy DNA układają się w przestrzeni?

- proporcje A:T i G:C są stałe, a proporcja (A+T):(G+C) jest zmienna
- cząsteczka ma układ helikalny i składa się z więcej niż jednego łańcucha polinukleotydowego
- struktura jest stabilizowana przez wiązania wodorowe

gęsty roztwór DNA $\xrightarrow[\text{obniżenie pH}]{\text{ogrzanie}}$ rzadki roztwór DNA

Watson i Crick: podwójna helisa

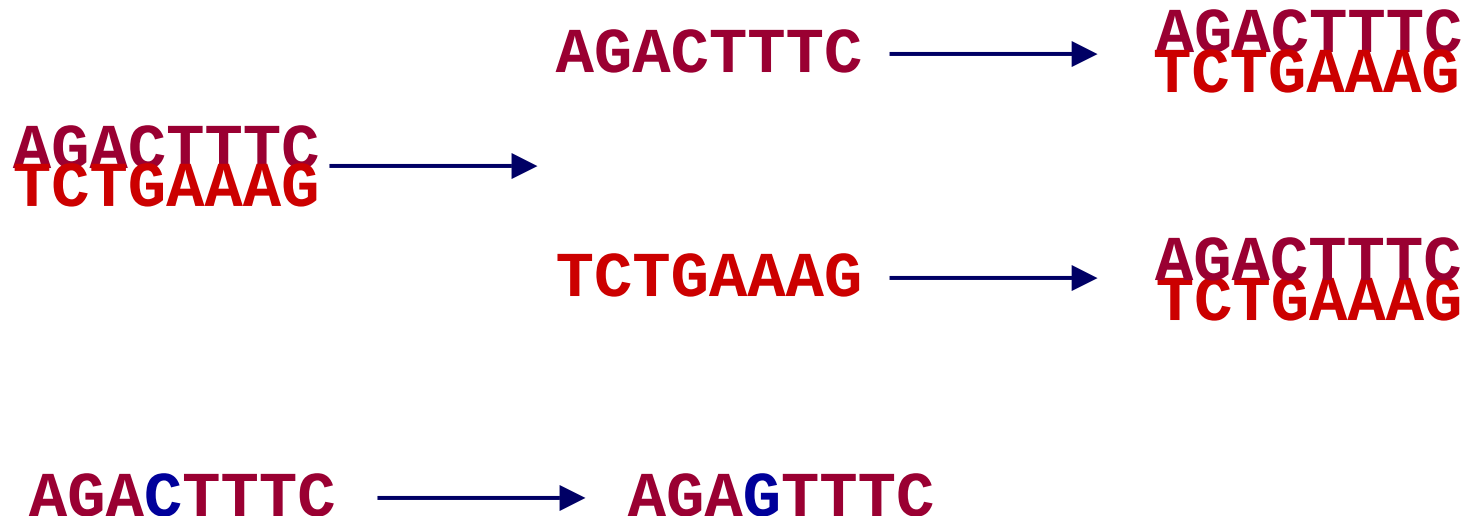
- cząsteczka DNA składa się z dwóch nici polinukleotydowych
- nici łączą wiązania wodorowe między zasadami azotowymi
- adenina zawsze oddziałuje z tyminą, a guanina z cytozyną



Najważniejsze implikacje

- informacja genetyczna jest zakodowana w sekwencji zasad w DNA
- powielanie informacji genetycznej następuje przez tworzenie nowej cząsteczki DNA na matrycy starej
- zamiana nukleotydu - mutacja

AGACTTTCGAGAGCTCGGTATAGGCGGTTATAGCATG

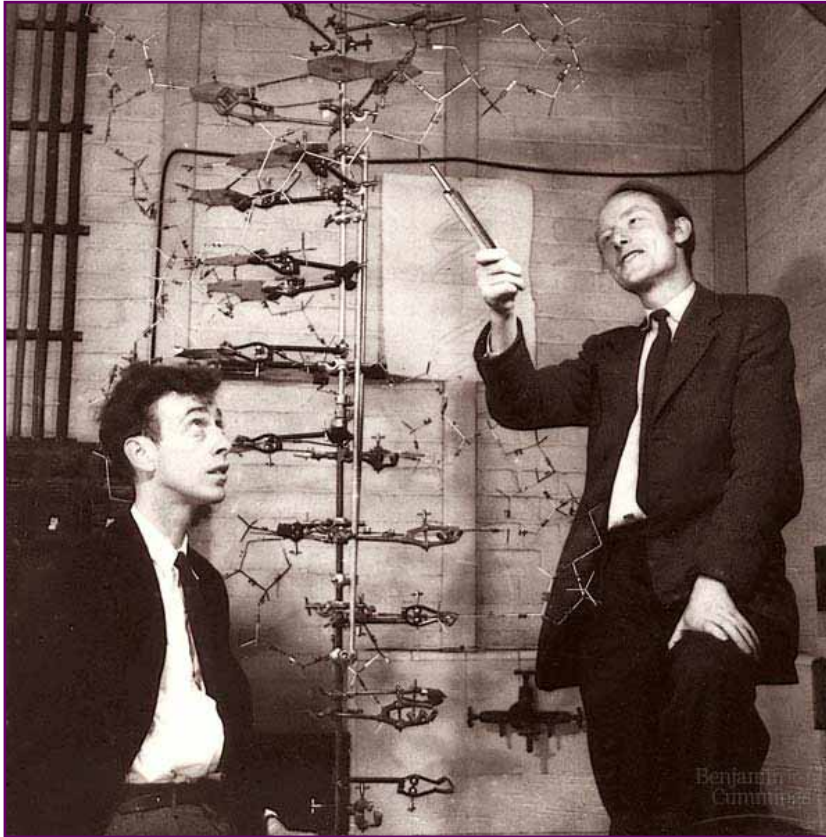


Znaczenie struktury DNA

Odkrycie struktury DNA było przełomowym momentem w biologii

- po nim nastąpiło zrozumienie wszystkich podstawowych procesów życiowych
- procesy bezpośrednio związane z DNA zostały przewidziane przez model albo dzięki niemu szybko odkryte
- w fizjologii, biochemii i biologii rozwoju nastąpiło znaczące przyśpieszenie

Odkrywcy struktury DNA



James Watson (1928-) Francis Crick (1916-2004)



Rosalind Franklin
(1920-1958)



Maurice Wilkins
(1916-2004)

equipment, and to Dr. G. E. R. Deacon and the captain and officers of R.R.S. *Discovery II* for their part in making the observations.

¹ Young, F. B., Gerrard, H., and Jevons, W., *Phil. Mag.*, **40**, 149 (1920).

² Longuet-Higgins, M. S., *Mon. Not. Roy. Astro. Soc., Geophys. Supp.*, **5**, 285 (1949).

³ Von Arx, W. S., *Woods Hole Papers in Phys. Oceanog. Meteor.*, **11** (3) (1950).

⁴ Ekman, V. W., *Arkiv. Mat. Astron. Fysik. (Stockholm)*, **2** (11) (1905).

MOLECULAR STRUCTURE OF NUCLEIC ACIDS

A Structure for Deoxyribose Nucleic Acid

WE wish to suggest a structure for the salt of deoxyribose nucleic acid (D.N.A.). This structure has novel features which are of considerable biological interest.

A structure for nucleic acid has already been proposed by Pauling and Corey¹. They kindly made their manuscript available to us in advance of publication. Their model consists of three intertwined chains with the phosphates near the fibre

is a residue on each chain every 3.4 Å. in the z-direction. We have assumed an angle of 36° between adjacent residues in the same chain, so that the structure repeats after 10 residues on each chain, that is, after 34 Å. The distance of a phosphorus atom from the fibre axis is 10 Å. As the phosphates are on the outside, cations have easy access to them.

The structure is an open one, and its water content is rather high. At lower water contents we would expect the bases to tilt so that the structure could become more compact.

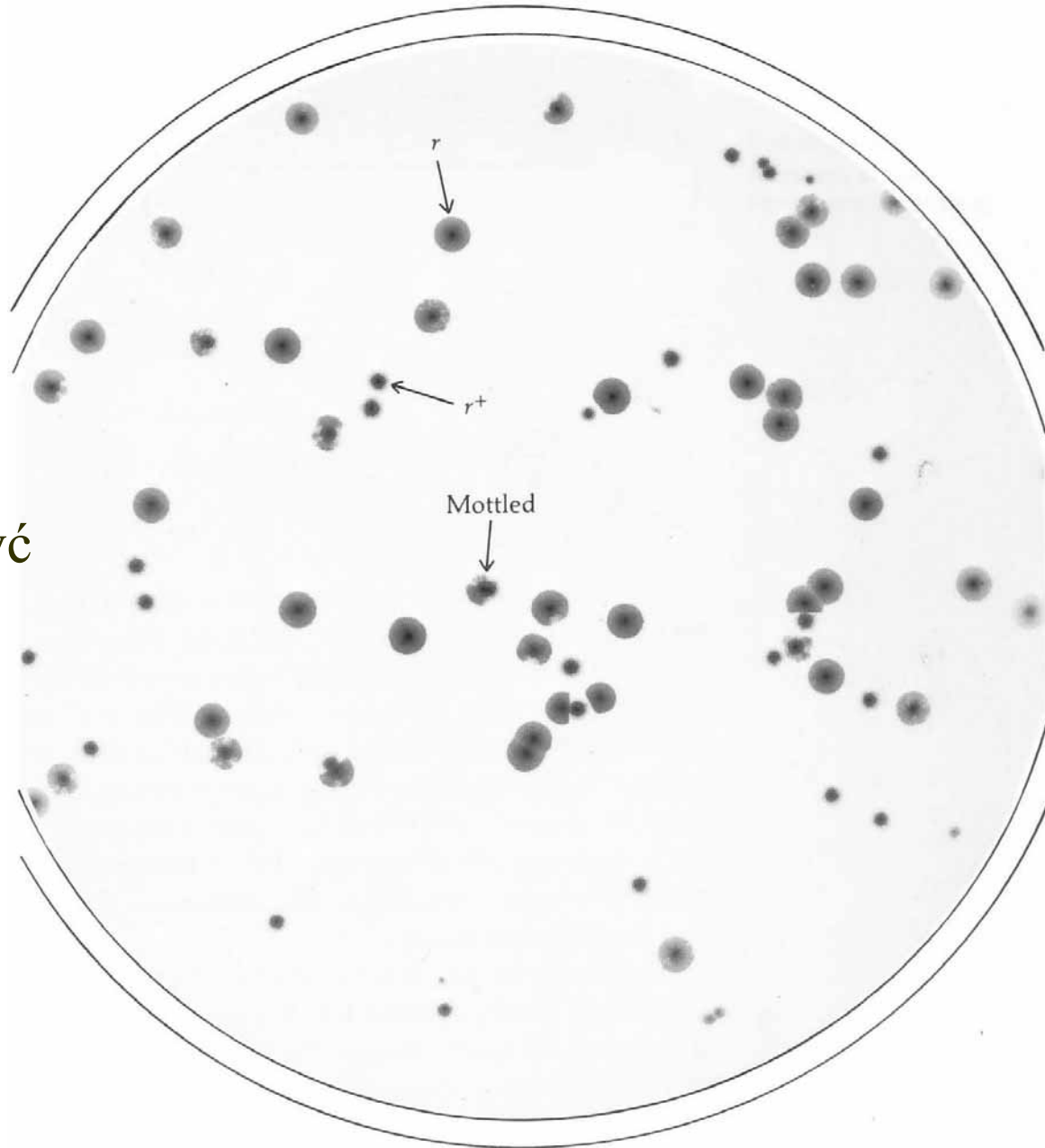
The novel feature of the structure is the manner in which the two chains are held together by the purine and pyrimidine bases. The planes of the bases are perpendicular to the fibre axis. They are joined together in pairs, a single base from one chain being hydrogen-bonded to a single base from the other chain, so that the two lie side by side with identical z-co-ordinates. One of the pair must be a purine and the other a pyrimidine for bonding to occur. The hydrogen bonds are made as follows: purine position 1 to pyrimidine position 1; purine position 6 to pyrimidine position 6.

If it is assumed that the bases only occur in the structure in the most plausible tautomeric forms (that is, with the keto rather than the enol con-

Geny mają naturę liniową

Badania rekombinacji mutantów *rII* u faga T4

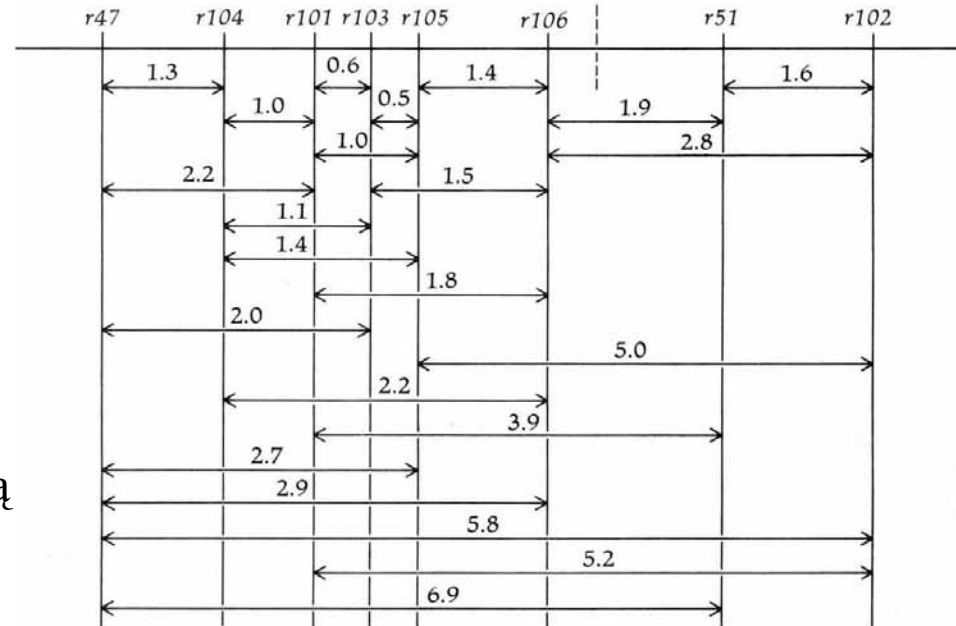
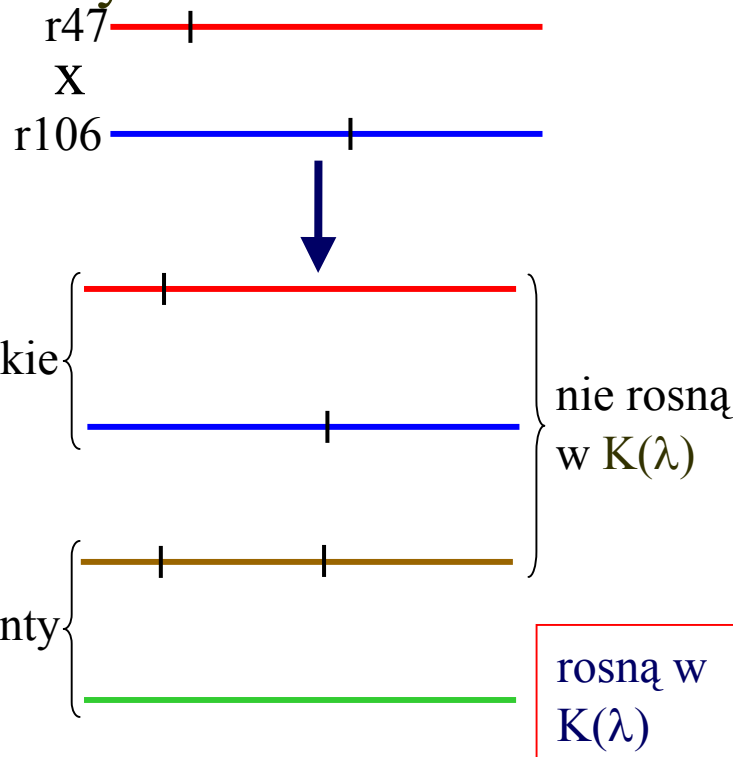
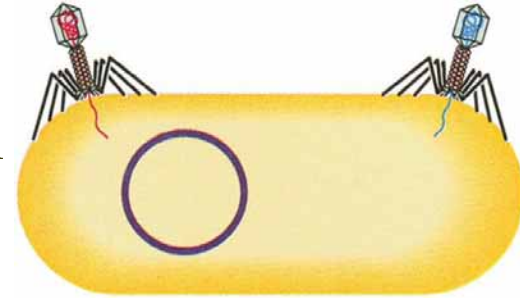
- robią większe łąsinki niż dziki (r^+)
- nie robią łąsinek w szczepie *E. coli* K(λ)
- rewersja mutacji może być łatwo wykryta



Geny mają naturę liniową

Badania rekombinacji mutantów *rII* u faga T4

- zarażenie bakterii jednocześnie dwoma mutantami
- namnożenie faga w dzikich bakteriach
- zakażenie bakterii $K(\lambda)$
- liczenie łąsinek



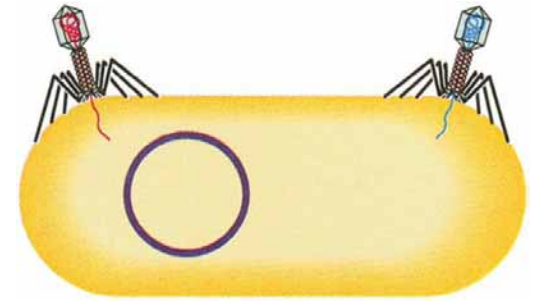
na *E. coli* B 1345 łąsinek
na *E. coli* $K(\lambda)$ 39 łąsinek - 2,9%

zaszła rekombinacja wewnątrz genu - geny mogą być w sekwencji

Geny mają naturę liniową

Badania rekombinacji mutantów *rII* u faga T4

- maksymalna teoretyczna rozdzielczość mapy 0,002
- maksymalna obserwowana rozdzielczość mapy 0,02
- jeden nukleotyd w sekwencji to w przybliżeniu 0,02

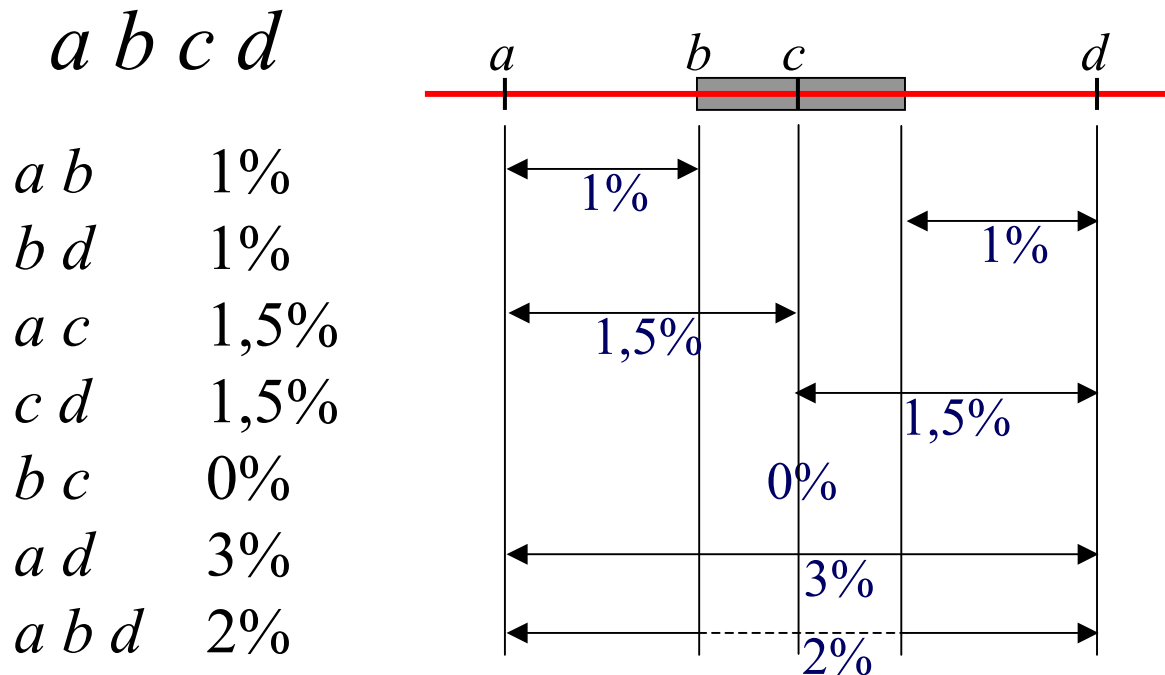


Geny mogą być zapisane w sekwencji nukleotydów.

Geny mają naturę liniową

Badania rekombinacji mutantów *rII* u faga T4

- niektóre mutacje w dziwny sposób nie rekombinują
- w obecności tej mutacji odległość między dwiema innymi się zmienia
- te mutacje to delecje

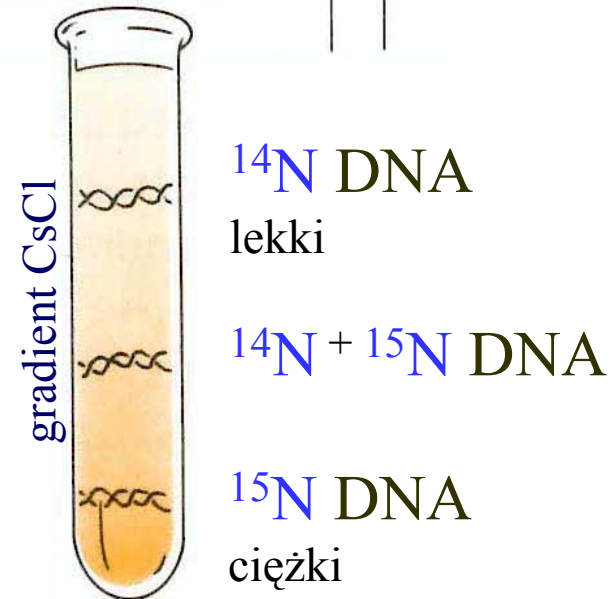
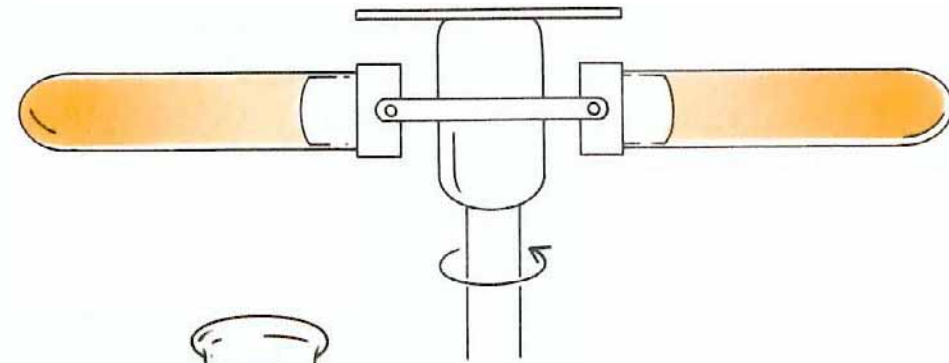
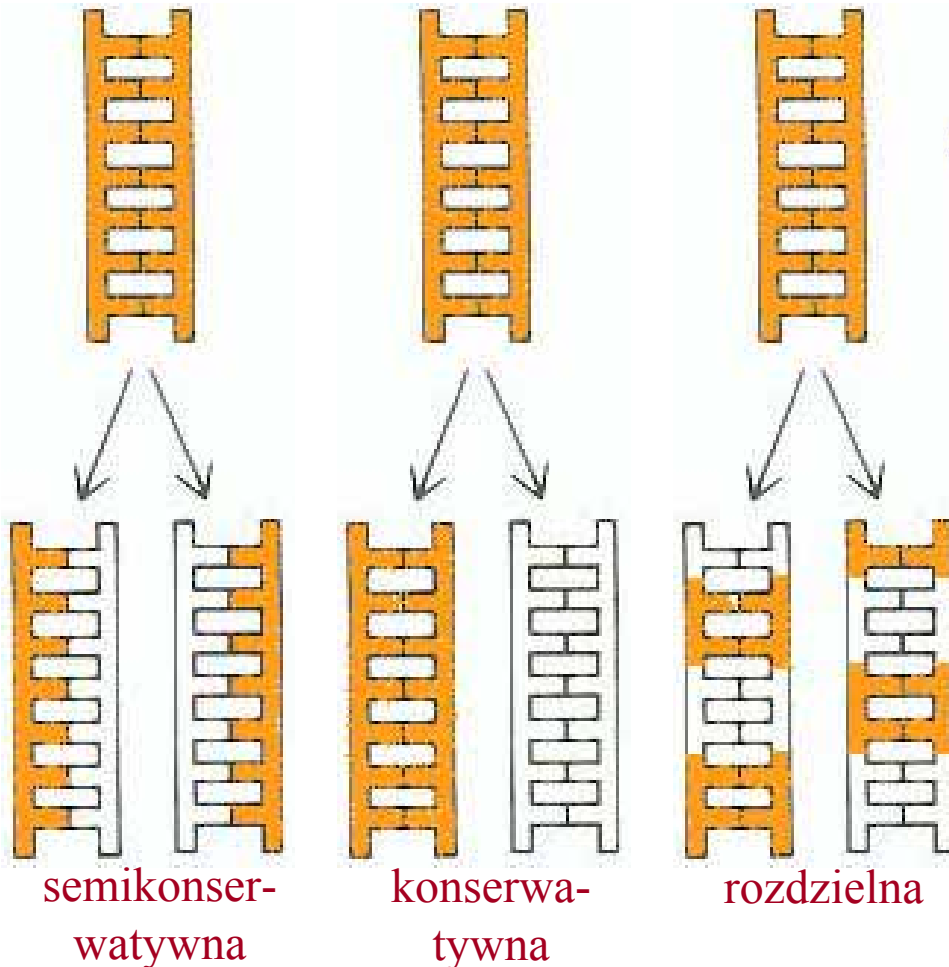


Geny mogą być zapisane w sekwencji nukleotydów.

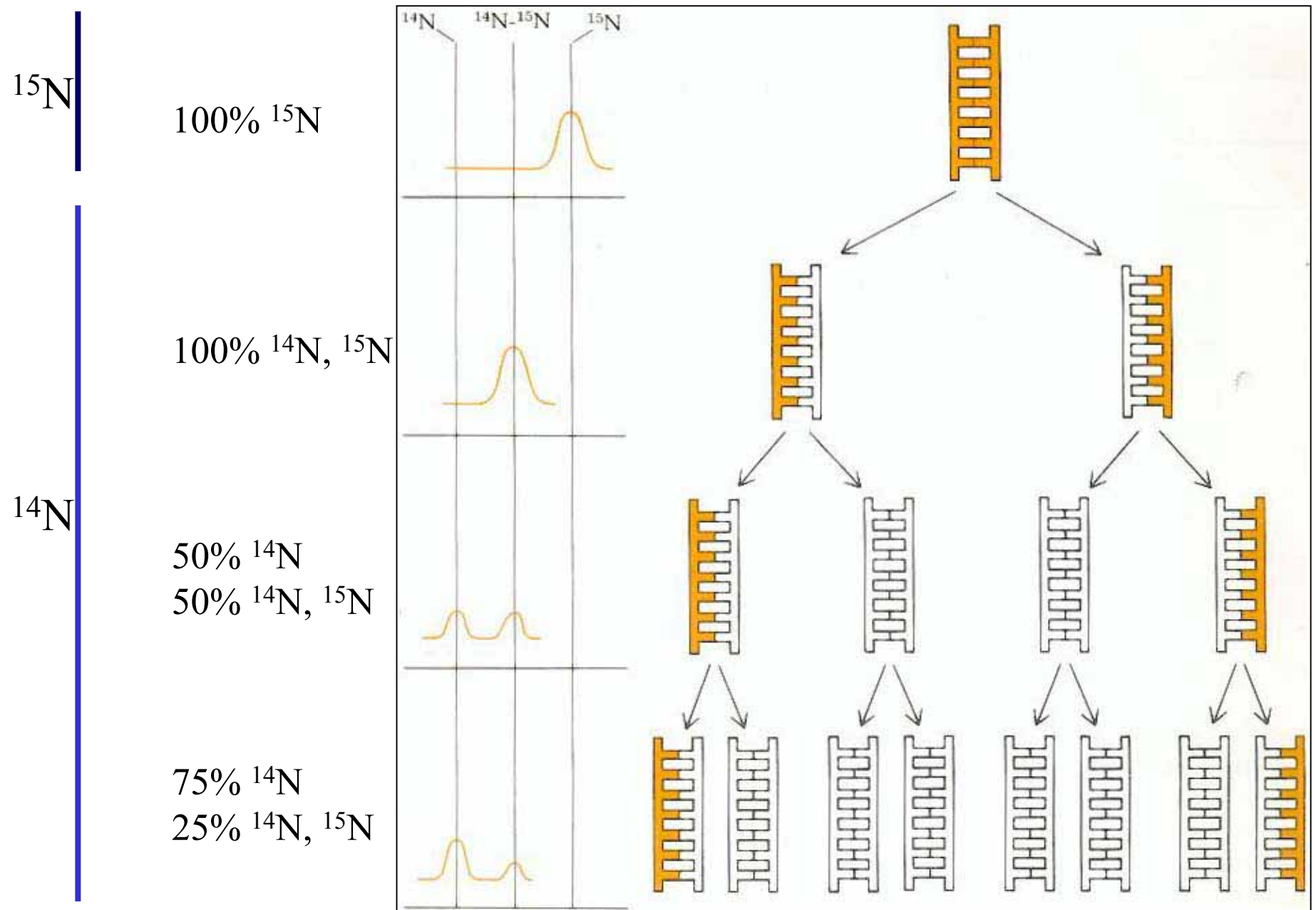
Replikacja DNA jest semikonserwatywna

Replikacja DNA

- semikonserwatywna, konserwatywna, rozdzielna
- tylko semikonserwatywna logicznie wynika z modelu Watsona-Cricka



Replikacja DNA jest semikonserwatywna



1. Mutacje to fizyczne zmiany w genach.
2. Informacja genetyczna jest w DNA.
3. Geny kodują białka.
4. Odkrycie struktury DNA było momentem przełomowym.
5. Struktura DNA pozwoliła przewidzieć sposób zapisu oraz mechanizm replikacji genów

